

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF  
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HAYASE, Kenichi  
Hayase & Co. Patent Attorneys  
Esaka ANA Building, 8F  
17-1, Enoki-cho  
Suita-shi  
Osaka 564-0053  
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 09 March 2001 (09.03.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P24701-PO	International application No. PCT/JP01/00784

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

MATSUHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD. (for all designated States except US)  
TAKAHASI, Mie et al (for US)

International filing date : 05 February 2001 (05.02.01)  
Priority date(s) claimed : 04 February 2000 (04.02.00)  
Date of receipt of the record copy  
by the International Bureau : 16 February 2001 (16.02.01)  
List of designated Offices :

EP : AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR  
National : CN,KR,US

## ATTENTION

The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- ☒ time limits for entry into the national phase
- ☒ confirmation of precautionary designations
- ☒ requirements regarding priority documents

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer:  Shinji IGARASHI
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

# PATENT COOPERATION TREATY

PCT

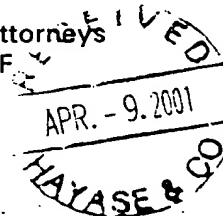
## NOTIFICATION CONCERNING SUBMISSION OR TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HAYASE, Kenichi  
Hayase & Co. Patent Attorneys  
Esaka ANA Building, 8F  
17-1, Enoki-cho  
Suita-shi  
Osaka 564-0053  
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 28 March 2001 (28.03.01)	
Applicant's or agent's file reference P24701-PO	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
International application No. PCT/JP01/00784	International filing date (day/month/year) 05 February 2001 (05.02.01)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 04 February 2000 (04.02.00)
Applicant MATSUHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD. et al	

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An asterisk(\*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
04 Febr 2000 (04.02.00)	2000/27988	JP	26 Marc 2001 (26.03.01)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland  Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer  Taieb Akremi  Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

## NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

HAYASE, Kenichi  
Hayase & Co. Patent Attorneys  
Esaka ANA Building, 8F  
17-1, Enoki-cho  
Suita-shi  
Osaka 564-0053  
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 09 August 2001 (09.08.01)		
Applicant's or agent's file reference P24701-PO		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP01/00784	International filing date (day/month/year) 05 February 2001 (05.02.01)	
		Priority date (day/month/year) 04 February 2000 (04.02.00)
Applicant MATSUHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD. et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

CN,EP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 09 August 2001 (09.08.01) under No. WO 01/57531

### REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

### REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年 8 月 9 日 (09.08.2001)

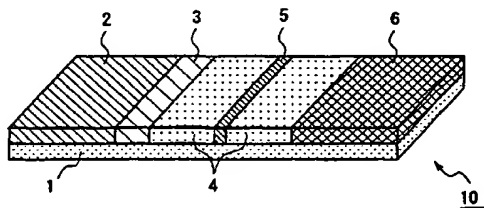
PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/57531 A1

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: G01N 33/543 町2-13-1 Ehime (JP). 灘岡正剛 (NADAOKA, Masataka) [JP/JP]; 〒799-3113 愛媛県伊予市米湊819-5 Ehime (JP).  
(21) 国際出願番号: PCT/JP01/00784 田中宏橋 (TANAKA, Hirotaka) [JP/JP]; 〒791-1102 愛媛県松山市来住町533-1-102 Ehime (JP).  
(22) 国際出願日: 2001 年 2 月 5 日 (05.02.2001)  
(25) 国際出願の言語: 日本語 (74) 代理人: 弁理士 早瀬憲一 (HAYASE, Kenichi); 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町17番1号 江坂全日空ビル8階 早瀬特許事務所 Osaka (JP).  
(26) 国際公開の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): CN, KR, US.  
(30) 優先権データ: 特願2000-27988 2000 年 2 月 4 日 (04.02.2000) JP (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).  
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 松下電器産業株式会社 (MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒571-8501 大阪府門真市大字門真1006番地 Osaka (JP). 添付公開書類:  
— 国際調査報告書  
(72) 発明者; および 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高橋三枝 (TAKAHASHI, Mie) [JP/JP]; 〒792-0026 愛媛県新居浜市久保田 各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: CHROMATOGRAPHY SPECIMEN AND METHOD FOR PREPARATION THEREOF

(54) 発明の名称: クロマトグラフィー試験片、及びその製造方法



(57) Abstract: A chromatography specimen (10) which has a sample addition section (2) for adding a liquid sample, a labeling material holding portion (3) for holding a labeling reagent, a reaction layer (4) for carrying out a binding reaction between the labeling reagent and a substance to be analyzed, a specific protein fixing portion (5) provided within the reaction layer (4) and a water absorbing section (6) for absorbing a residual sample, wherein the reaction layer comprises a surfactant which can be solidified by drying. The chromatography specimen (10)

is improved in permeation speed, permeating properties and the uniformity of permeation in the reaction layer (4) and thus can achieve the improvement in the performance capability for a measurement.

[続葉有]

WO 01/57531 A1



---

(57) 要約:

本発明に係るクロマトグラフィー試験片 10 は、液体試料が添加される試料添加部 2 と、標識試薬を保持する標識物保持部位 3 と、標識試薬と分析対象物との結合反応が行われる反応層 4 と、反応層 4 の領域中に特異的タンパク質を保持する特異的タンパク固定化部 5 と、試料を吸収する吸水部 6 とを備え、上記反応層 4 に、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤溶解液を含浸した後に、乾燥処理を行うものである。

-----このような構成によるクロマトグラフィー試験片 10 においては、反応層 4 における浸透速度と浸透性との向上、浸透の均一化、及び測定性能の向上を実現できる。



## 明 細 書

## クロマトグラフィー試験片、及びその製造方法

## 5 技術分野

本発明は、液体試料を定性あるいは定量分析するためのクロマトグラフィー試験片、及びその製造方法に関し、特に試験片上で液体試料が均一に展開するものに関する。

## 10 背景技術

従来から、水質検査や尿検査などの液体試料の化学試験、あるいは臨床試験を実施する方法として、抗原抗体反応や酵素反応を利用したクロマトグラフィーによる測定方法が汎用されている。一般にクロマトグラフィーとは、混合物をその構成成分に応じて分離する方法をいう。

- 15 第8図は、クロマトグラフィーによる測定に使用される、従来のクロマトグラフィー試験片を示す図である。

第8図において、クロマトグラフィー試験片100は、クロマトグラフィー材料を支持する反応層担体支持体101と、液体試料が添加される試料添加部102と、液体試料の浸透により移動可能な標識試薬を保持する標識物保持部位103と、流れてきた液体試料に含まれる分析対象物と特異的に結合する物質を備えた標識試薬と分析対象物との結合反応が行われる反応層104と、反応層104の領域上に、反応形式にあわせて、抗体あるいは抗原のような分析対象物に対して特異的に結合反応する特異的タンパク質が固定化されている特異的タンパク固定化部105と、流れてきた液体試料を吸収する吸水部106とを備える。

- 25 次に、従来のクロマトグラフィー試験片100による測定方法について説明する。

液体試料が試料添加部102に添加されると、該液体試料が試料添加部102に浸透し、標識物保持部位103に達する。次に、標識物保持部位103の領域に保持された標識試薬が、液体試料の浸透により溶解され、液体試料と共に反応

層 104 に浸透する。反応層 104 の領域上には、特異的タンパク質が固定化された特異的タンパク固定化部 105 があり、上記液体試料が分析対象物を含む場合は、該特異的タンパク質が分析対象物と標識試薬との複合体に対して抗原抗体反応を起こし、上記特異的タンパク固定化部 105 の領域に何らかの呈色反応が見られる。この呈色反応は、目視あるいは検出装置を用いて測定される。また、液体試料が分析対象物を含まない場合は、抗原抗体反応は起こらず、呈色反応も見られない。そして、最終的に液体試料は吸水部 106 に吸収され、反応は終了する。このように、クロマトグラフィー試験片による測定方法は、検査結果が呈色反応に表れるためにその判定が非常に容易であることから、用途範囲が広いのが特色であり、またさまざまな分析対象物の検査に利用することができる。しかし、クロマトグラフィー試験片による測定は、上記試験片上で液体試料を展開させ、呈色反応を確認するものであるので、正確な測定結果を得るためには、該試験片上での液体試料のより均一な展開パターンが必要であり、また、液体試料の展開速度によって、反応層 104 における標準試薬と該液体試料との反応が影響されるので、該反応層 104 に対する液体試料の浸透性の向上も必要である。

クロマトグラフィー試験片の従来例としては、例えば特開昭 62-71861 号公報や、特開平 11-153601 号公報が挙げられる。

特開昭 62-71861 号公報では、免疫原理を用いた測定において HLB (hydrophile-lipophile balance) 値が 20 より大きい界面活性剤を添加し、反応を促進させて分析対象物を迅速に検出する方法が開示されており、また、特開平 11-153601 号公報には、試料添加部から反応層までの間に界面活性剤などを担持した添加剤含浸部を設け、バックグラウンドの着色やブランクの発生による S/N 比の低下や誤動作をなくして分析対象物を正確且つ迅速に検出する方法が開示されている。

しかしながら、従来より、クロマトグラフィー試験片は、液体試料の浸透速度を機械的にコントロールする手段がないため、人為的に浸透速度を制御することができず、その液体試料の浸透速度は試験片の浸透性に左右されざるをえないものである。そのため、液体試料が試験片に浸透するまでに大幅な時間を要したり、液体試料の反応層 104 への浸透が不均一であったり、特異的タンパク固定化部

105等の反応成分固定化部に試料が浸透しない部分が生じたりし、その測定の正確性を欠くものであった。この解決方法として、試験片に界面活性剤処理を施し、クロマトグラフィー試験片の浸透性能の向上が図られてきたが、上記界面活性剤処理に使用する界面活性剤として、本来の性状が液状またはペースト状であるものを用いると、該界面活性剤を絶乾状態まで乾燥させることが不可能であり、これによりクロマトグラフィー試験片の保存期間中に徐々に固定化抗体の失活が進んで試験片の性能が悪化して、試験片の品質保持期限が短期間化する、あるいは試験片の保管条件が限定される等という問題があった。

また、クロマトグラフィー測定は、試験片に液体試料を添加して一定時間の経過後に呈色反応を起こした呈色領域の測定を行うものであるので、試験片に界面活性剤処理を行うと、標識試薬が反応層104に対して非特異吸着を起こして標識試薬が反応層上にバックグラウンドとして残留してしまい、該呈色領域を検出計器を用いて測定を行う時に、そのバックグラウンドの値が本来の呈色度合に上乘せられて誤差を含めてしまうことになり、定量性能が低下するという問題があった。また、目視で上記呈色反応を判断する場合においても同様に、バックグラウンドの呈色が本来の呈色状況の判断を誤認させることになるという問題があった。

また、特開昭62-71861号公報に開示されている方法を用いた場合、HLB値が20より大きい界面活性剤を添加して試験片の浸透性を高めているので、確かに試験片の浸透性及び浸透速度が向上するが、その浸透速度があまりに速いために測定に必要とされる反応が十分に行われず、測定の正確性を欠くことになるという問題があった。

また、特開平11-153601号公報に開示されているクロマトグラフィー試験片を用いて測定した場合には、界面活性剤を試験片上の反応層より前の部位に含浸させているので、特異的タンパク固定化部等の反応成分固定化部には界面活性剤が存在しないため、バックグラウンドの影響を軽減でき、且つ試験片の反応成分の失活や変性は生じない。しかし、浸透が進行する段階で固定化領域中の反応成分に十分試料が浸透しないために反応が均一に行われず、測定の正確性を欠くことになるという問題があった。

- 本発明は、かかる問題に鑑みてなされたものであり、バックグラウンドにおける標識試薬の残留量を最低限に抑え、液体試料の浸透性の向上と、より均一な液体試料の展開とにより反応性を向上させ、また、クロマトグラフィー試験片の保存安定性を向上させたクロマトグラフィー試験片、及びその製造方法を提供することを目的とする。

#### 発明の開示

- 本発明の請求の範囲第1項に記載のクロマトグラフィー試験片は、湿潤可能な複数の多孔質性材料を積層してなる、あるいは単層の多孔質性材料よりなるクロマトグラフィー試験片において、クロマトグラフ分析で用いられる反応成分の少なくとも一つが固定化された反応層が、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を含むことを特徴とするものである。

- これにより、反応層の浸透性の向上と、均一な試料の浸透によりクロマトグラフィー試験片の反応性を向上させることができるため、より高感度で、高性能なクロマトグラフィー測定を実現することができる。また、界面活性剤として、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を用いることにより、反応層に固定化された反応成分の失活を最低限に抑えることができ、上記クロマトグラフィー試験片の保存安定性の向上と、品質保持期間の長期化と、保管条件の緩和とを実現することができる。

- 本発明の請求の範囲第2項に記載のクロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第1項に記載のクロマトグラフィー試験片において、上記界面活性剤が、20以下のHLB値の界面活性剤を含むことを特徴とするものである。

- これにより、請求の範囲第1項の効果に加え、さらに反応層における液体試薬の浸透速度が速すぎることにより反応が不十分になることを防ぐことができ、また上記HLB値を選択するようにして適度な反応速度に調節することにより、より高感度且つ高性能なクロマトグラフィー測定を実現することができる。

-----本発明の請求の範囲第3項に記載のクロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第1項または請求の範囲第2項に記載のクロマトグラフィー試験片において、上記界面活性剤が、非イオン性の界面活性剤を含むことを特徴とするものである。

これにより、請求の範囲第1項の効果に加え、さらに反応層上への標識試薬の非特異吸着を回避し、標識試薬が反応層上にバックグラウンドとして残留することを防止できるので、より高感度で、より高性能なクロマトグラフィー試験片による測定が可能となる。

- 5 本発明の請求の範囲第4項に記載のクロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第1項ないし請求の範囲第3項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片において、上記界面活性剤が、コール酸系の界面活性剤を含むことを特徴とするものである。

- 10 これにより、請求の範囲第1項の効果に加え、さらにタンパク質に対しての影響を低減して、固定化された特異的タンパク質の変性あるいは失活を最低限に抑えることが可能となり、反応層の長期間の性能保持が実現できる。

- 15 本発明の請求の範囲第5項に記載のクロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第1項ないし請求の範囲第4項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片において、上記界面活性剤が、親水部に糖を持つ界面活性剤を含むことを特徴とするものである。

これにより、請求の範囲第1項の効果に加え、さらに糖の作用により溶解性が高く、且つ浸透性が増す一方で、タンパク質に対しての影響を低くすることができるので、固定化された特異的タンパク質の変性あるいは失活を最低限に抑えることが可能となり、反応層の長期間の性能保持が実現できる。

- 20 本発明の請求の範囲第6項に記載のクロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第1項ないし請求の範囲第5項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片において、上記反応層は、上記界面活性剤を上記反応層の全体に含むことを特徴とするものである。

- 25 これにより、反応層の浸透性の向上と、均一な試料の浸透によりクロマトグラフィー試験片の反応性を向上させることができ、より高感度で、高性能なクロマトグラフィー測定を実現することができる。また、界面活性剤として、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を用いることにより、反応層に固定化された反応成分の失活を最低限に抑えることができ、クロマトグラフィー試験片の保存安定性の向上と、品質保持期限の長期化と、保管条件の緩和とを実現すること

ができる。

本発明の請求の範囲第 7 項に記載のクロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 5 項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片において、上記反応層は、上記界面活性剤を上記反応層の一部に含むことを特徴とするものである。

これにより、反応層の浸透性の向上と、均一な試料の浸透によりクロマトグラフィー試験片の反応性を向上させることができ、より高感度で、高性能なクロマトグラフィー測定を実現することができる。また、界面活性剤として、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を用いることにより、反応層に固定化された反応成分の失活を最低限に抑えることができ、クロマトグラフィー試験片の保存安定性の向上と、品質保持期限の長期化と、保管条件の緩和とを実現することができる。

本発明の請求の範囲第 8 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、クロマトグラフ分析で用いられる反応成分の少なくとも一つが固定化された反応層を有するクロマトグラフィー試験片の製造方法において、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を溶解した界面活性剤溶解液を、上記クロマトグラフィー試験片の反応層に含浸、あるいはコーティングするステップと、上記反応層に含浸、あるいはコーティングした界面活性剤溶解液を乾燥させるステップと、を備えたことを特徴とするものである。

これにより、反応層の浸透性の向上と、均一な試料の浸透によりクロマトグラフィー試験片の反応性を向上させることができ、より高感度で、高性能なクロマトグラフィー試験片を製造できる。また、界面活性剤として、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を用いることにより、反応層に固定化された反応成分の失活を最低限に抑えることができ、保存安定性の向上と、品質保持期限の長期化と、保管条件の緩和とを実現したクロマトグラフィー試験片を製造することができる。

-----本発明の請求の範囲第 9 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、-----  
請求の範囲第 8 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記界面活性剤が、20 以下の HLB 値の界面活性剤を含むことを特徴とするもので

ある。

これにより、請求の範囲第 8 項の効果に加え、さらに反応層における液体試料の浸透速度が速すぎるにより反応が不十分となることを回避することができ、また上記 HLB 値を選択するようにして適度な反応速度に調節することにより、

5 より高感度で、且つ高性能なクロマトグラフィー試験片を製造できる。

本発明の請求の範囲第 10 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、請求の範囲第 8 項または請求の範囲第 9 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記界面活性剤が、非イオン性の界面活性剤を含むことを特徴とするものである。

10 これにより、請求の範囲第 8 項の効果に加え、さらに反応層上への標識試薬の非特異吸着を回避して、標識試薬が反応層上にバックグラウンドとして残留することを防止できるので、より高感度、且つより高性能なクロマトグラフィー試験片を製造できる。

本発明の請求の範囲第 11 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、

15 請求の範囲第 8 項ないし請求の範囲第 10 項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記界面活性剤が、コール酸系の界面活性剤を含むことを特徴とするものである。

これにより、請求の範囲第 8 項の効果に加え、タンパク質に対しての影響を低減し、固定化された特異的タンパク質の変性あるいは失活を最低限に抑えることが可能となり、長期間の性能保持が可能なクロマトグラフィー試験片を製造できる。

20

本発明の請求の範囲第 12 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、請求の範囲第 8 項ないし請求の範囲第 11 項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記界面活性剤が、親水部に糖を持つ界面活性

25 剤を含むことを特徴とするものである。

これにより、請求の範囲第 8 項の効果に加え、さらに糖の作用により溶解性が高く、且つ浸透性が増す一方で、タンパク質に対しての影響を低くすることができるので、固定化された特異的タンパク質の変性あるいは失活を最低限に抑えることが可能となり、長期間の性能保持が可能なクロマトグラフィー試験片を製造

できる。

本発明の請求の範囲第 1 3 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、請求の範囲第 8 項ないし請求の範囲第 1 2 項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記反応層の乾燥が自然乾燥により行われること  
5      とを特徴とするものである。

これにより、請求の範囲第 8 項の効果に加え、さらに反応層上に固定化された反応成分に対する負荷を低く抑えることが可能となり、処理された反応層の性能を長期間保持することのできるクロマトグラフィー試験片を製造できる。

本発明の請求の範囲第 1 4 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、  
10      請求の範囲第 8 項ないし請求の範囲第 1 2 項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記反応層の乾燥が風乾燥により行われることを特徴とするものである。

これにより、請求の範囲第 8 項の効果に加え、さらに乾燥時間を短時間化して、乾燥中における固定化反応成分の失活あるいは変性を最低限にすることが可能となり、処理された反応層の性能を長期間保持することのできるクロマトグラフィー試験片を製造できる。  
15      

本発明の請求の範囲第 1 5 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、請求の範囲第 8 項ないし請求の範囲第 1 2 項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記反応層の乾燥が凍結乾燥により行われること  
20      とを特徴とするものである。

これにより、請求の範囲第 8 項の効果に加え、さらに固定化反応成分の性質をほぼ保持することが可能となり、処理された反応層の性能を長期間保持することのできるクロマトグラフィー試験片を製造できる。

本発明の請求の範囲第 1 6 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、  
25      請求の範囲第 8 項ないし請求の範囲第 1 5 項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記界面活性剤溶解液が、上記反応層の全体に含浸、あるいはコーティングされることを特徴とするものである。

これにより、反応層の浸透性の向上と、均一な試料の浸透によりクロマトグラフィー試験片の反応性を向上させることができ、より高感度、且つより高性能な



クロマトグラフィー試験片を製造できる。また、界面活性剤として、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を用いることにより、反応層に固定化された反応成分の失活を最低限に抑えることができ、保存安定性の向上と、品質保持期限の長期化と、保管条件の緩和とを実現したクロマトグラフィー試験片を製造することができる。

本発明の請求の範囲第 17 項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法は、請求の範囲第 8 項ないし請求の範囲第 15 項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、上記界面活性剤溶解液が、上記反応層の一部に含浸、あるいはコーティングされることを特徴とするものである。

これにより、反応層の浸透性の向上と、均一な試料の浸透によりクロマトグラフィー試験片の反応性を向上させることができ、より高感度、且つより高性能なクロマトグラフィー試験片を製造できる。また、界面活性剤として、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を用いることにより、反応層に固定化された反応成分の失活を最低限に抑えることができ、保存安定性の向上と、品質保持期限の長期化と、保管条件の緩和とを実現したクロマトグラフィー試験片を製造することができる。

#### 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明の実施の形態 1 による、横型クロマトグラフィー試験片の構成を示す斜視図である。

第 2 図は、本発明の実施の形態 2 による、縦型クロマトグラフィー試験片の構成を示す斜視図である。

第 3 図は、本発明の実施の形態 2 による、縦型クロマトグラフィー試験片を示す斜視図である。

第 4 図は、本発明の実施の形態 2 による、縦型クロマトグラフィー試験片を示す斜視図である。

第 5 図は、本発明の実施の形態 2 による、酵素を用いた縦型クロマトグラフィー試験片の構成を示す斜視図である。

第 6 図は、本発明の実施の形態 2 による、酵素を用いた縦型クロマトグラフィ

一試験片を示す斜視図である。

第7図は、本発明の実施例による、反応層の処理として界面活性剤を用いない場合（a）と、界面活性剤を用いた場合（b）との定量性能を示す図である。

第8図は、従来のクロマトグラフィー試験片の構成を示す斜視図である。

5

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の実施の形態について、図面を参照しながら説明する。なお、ここで示す実施の形態はあくまでも一例であって、必ずしもこの実施の形態に限定されるものではない。

10 実施の形態1.

第1図は、本発明の実施の形態1による、湿潤可能な単層の多孔質性材料からなる横型クロマトグラフィー試験片を示す図である。

15 第1図において、横型クロマトグラフィー試験片10は、反応層担体支持体1と、試料添加部2と、標識物保持部位3と、反応層4と、特異的タンパク固定化部5と、吸水部6とを備える。

反応層担体支持体1は、液体不透過性のプラスチックなどからなり、クロマトグラフィー材料を支持するものである。試料添加部2は、吸収性の大きい不織布などからなり、液体試料が添加あるいは塗布されるものである。標識物保持部位3は、不織布などに標識試薬を液体試料で溶解可能なように保持するものである。

20 反応層4は、ニトロセルロースなどからなり、さらに、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を溶解した界面活性剤溶解液が含浸処理され、その後乾燥処理されるものである。ここで示す界面活性剤とは、分子内に水分子との親和性が強い親水性原子団と、水分子との親和性の弱い疎水性原子団とを持つ、界面または表面の諸性質を変化させる性質を有する物質のことを総称しており、さらに  
25 その界面活性剤のうち、上記乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤とは、高濃度状態の界面活性剤を真空あるいは凍結乾燥、または熱をかけての常圧下も

しくは常温常圧下においての乾燥作業を行った際に、塊化または顆粒、粉末といった固体の形状となり得るもののことである。また、反応層4に対する含浸処理とは、反応層4を界面活性剤溶解液に浸漬する処理を示すものである。特異的タ

ンパク固定化部 5 は、上記反応層 4 の領域上に、反応形式にあわせて、抗体あるいは抗原のような分析対象物に対して特異的に結合反応する特異的タンパク質を固定化したものであり、吸水部 6 は、液体試料を最終的に吸収するものである。そして、上記試料添加部 2、標識物保持部位 3、特異的タンパク固定化部 5 を有する反応層 4、及び吸水部 6 を、上記反応層担体支持体 1 の上部に張り付けて、  
5 上記横型クロマトグラフィー試験片 10 を形成する。

上記クロマトグラフィー試験片 10 上の標識物保持部位 3 に保持する標識試薬、及び上記特異的タンパク固定化部 5 に固定化する特異的タンパク質は、分析する試料、及び分析対象物に合わせて適切なものを選択する必要がある。

10 また、上記反応層 4 に対して含浸させる界面活性剤溶解液には、乾燥した際に固体となる性状で、且つ HLB 値が 20 以下の界面活性剤、あるいは非イオン性の界面活性剤、コール酸系の界面活性剤、親水部に糖を持つ界面活性剤等を含む界面活性剤が使用される。

ここで、上記界面活性剤溶解液に使用される界面活性剤についてより好ましいものを挙げると、HLB 値が 20 以下の界面活性剤を含むものについては、HLB 値が 20 に近い値であり、且つ親水性原子団を多く持つ構造である界面活性剤を含むものであればより好ましく、また上記コール酸系の界面活性剤を含むものについては、N, N-Bis (3-D-glucosamidopropyl) cholamide や、N, N-Bis (3-D-glucosamidopropyl) deoxycholamide などのコール酸を母核とする界面活性剤を含むものを用いるとより好ましい。また、上記親水部に糖を持つ界面活性剤を含むものについては、Sucrose Monolaurate や、n-Octyl- $\beta$ -D-Thioglucoside などの糖鎖を持つ構造を有した界面活性剤を含むものであるとより好ましい。ただし、上述した界面活性剤の物質名はほんの一例である。  
15  
20  
25

さらに、上記反応層 4 に対する界面活性剤処理は、反応層 4 に界面活性剤溶解液を含浸する含浸処理により行うとしたが、反応層 4 に界面活性剤溶解液をコーティングするコーティング処理により行ってもよい。そして、上記反応層 4 に対する界面活性剤処理は、反応層 4 の一部に対してなされても、全体に対してなさ

れてもよい。

また、反応層 4 に含浸させた界面活性剤溶解液の乾燥処理については、例えば、  
常温常圧下に放置して乾燥する方法である自然乾燥、任意の温度下において一定  
の風力をかけることで乾燥する方法である風乾燥、あるいは凍結乾燥等の処理が  
5 ある。

そして、上記横型クロマトグラフィー試験片 10 としては、ニトロセルロース  
やガラス繊維濾紙のような、任意の多孔質性担体で構成されたクロマトグラフィー  
材料が用いられる。

次に、本実施の形態 1 による横型クロマトグラフィー試験片 10 を用いたクロ  
10 マトグラフ分析方法について説明する。

第 1 図において、液体試料が試料添加部 2 に添加されると、該液体試料は試料  
添加部 2 に浸透し、標識物保持部位 3 に達する。次に、標識物保持部位 3 の領域  
に保持された標識試薬が、液体試料の浸透により溶解され、液体試料と共に反応  
層 4 に浸透する。そして、液体試料の浸透と共に反応層 4 に含まれた界面活性剤  
15 が溶解する。溶解した界面活性剤の作用により、反応層 4 における浸潤が速やか  
に行われ、液体試料の浸透は、浸透する液体の先端がそろった状態で、且つ滞る  
こと無く進行する。反応層 4 の領域上には、特異的タンパク質が固定化された特  
異的タンパク固定化部 5 が有り、液体試料が分析対象物を含む場合は、特異的タ  
ンパク質が分析対象物と標識試薬との複合体に対して抗原抗体反応を起こし、特  
20 異的タンパク固定化部 5 の領域に何らかの呈色反応が見られる。液体試料が分析  
対象物を含まない場合は、抗原抗体反応は起こらず、呈色反応も見られない。そ  
して最終的に、液体試料は吸水部 6 に吸収され、反応は終了する。

以上のように、本実施の形態 1 による横型クロマトグラフィー試験片 10 によ  
れば、クロマトグラフィー試験片 10 上の反応層 4 への界面活性剤溶解液の含浸  
25 処理と乾燥処理とにより、クロマトグラフィー試験片 10 の浸透性を向上させ、  
より均一な浸透が可能となる。この浸透性の向上、及び液体試料の均一な浸透は、  
クロマトグラフィー試験片 10 上での反応性を向上させ、より高感度で、且つよ  
り高性能なクロマトグラフィー測定を実現するという効果が得られる。

また、反応層 4 に含浸させる界面活性剤溶解液に使用する界面活性剤として、

- 乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を含むものを用いることにより、液体試料が添加され反応層 4 に浸透するまで、反応層 4 は完全な乾燥状態にあるため、固定化された特異的タンパク質の失活を最低限に抑えることができ、クロマトグラフィー試験片 10 の保存安定性の向上と、品質保持期間の長期化と、保管条件の緩和とを実現することができる。

- また、上記界面活性剤として、HLB 値が 20 以下の界面活性剤を含むものを用いることにより、上記反応層 4 における液体試料の浸透速度が速すぎて反応が不十分となることを回避することができる。さらに、上記 HLB 値を選択してその反応速度を適度なものに調整するようにすれば、より高感度で、且つ高性能なクロマトグラフィー測定を実現できる。

- また、上記界面活性剤として、非イオン性の界面活性剤を含むものを用いることにより、上記反応層 4 上への標識試薬の非特異吸着を回避でき、標識試薬が反応層 4 上にバックグラウンドとして残留し、特異的タンパク固定化部 5 における呈色反応の測定誤差を防止することができる。そしてその結果、クロマトグラフィー試験片 10 による、より高感度で、且つより高性能な測定が可能となる。

また、上記界面活性剤として、コール酸系の界面活性剤を含むものを用いることにより、タンパク質に対しての影響を低減でき、上記特異的タンパク固定化部 5 に固定化された特異的タンパク質の変性あるいは失活を最低限に抑えることが可能となり、上記反応層 4 の長期間の性能保持を実現できる。

- また、上記界面活性剤として、親水部に糖を持つ界面活性剤を含むものを用いることにより、糖の作用により溶解性が高くなり浸透性が増す一方で、タンパク質に対しての影響が低いため、固定化された特異的タンパク質の変性あるいは失活を最低限に抑えることが可能となり、上記反応層 4 の長期間の性能保持を実現することができる。

- また、上記反応層 4 の乾燥を自然乾燥により行うことで、その反応層 4 に固定化された特異的タンパク質に対する負荷を低く抑えることが可能となり、試験片 10 の長期間の性能保持を実現できる。

また、上記反応層 4 の乾燥を風乾燥により行うことで、乾燥時間を短時間化することができ、乾燥中における特異的タンパク質の失活あるいは変性を最低限に

抑えることが可能となり、試験片 10 の長期間の性能保持を実現できる。

また、上記反応層 4 の乾燥を凍結乾燥により行うことで、特異的タンパク質の性質をほぼ保持することが可能となり、試験片 10 の長期間の性能保持を実現できる。

- 5      なお、本実施の形態 1 においては、クロマトグラフ分析で用いられる反応成分として特異的タンパク質を例に挙げて説明したが、上記反応成分として、例えば酵素のように反応の前後において何らかの変化を生じるものを用いてもよい。その場合、上記横型クロマトグラフィー試験片 10 の上記特異的タンパク固定化部 5 に、特異的タンパク質のかわりに上記酵素を固定し、上記標識物保持部位 3 に、
- 10   標識試薬のかわりに、液体試料に溶解可能なように、測定対象物と結合して上記酵素と反応する反応試薬を保持する。

実施の形態 2.

以下、本発明の実施の形態 2 による縦型クロマトグラフィー試験片について、第 2 図、第 3 図、及び第 4 図を参照しながら説明する。

- 15      第 2 図は、本実施の形態 2 に係る、湿潤可能な複数の多孔質性材料を積層してなる縦型クロマトグラフィー試験片の構成を示す斜視図である。第 3 図は、試料添加部側から見た縦型クロマトグラフィー試験片を示す斜視図である。第 4 図は、最終的に試料を吸収する吸水部側から見た縦型クロマトグラフィー試験片を示す斜視図である。

- 20      第 2 図において、縦型クロマトグラフィー試験片 20 は、試料添加部 11 と、標識物保持部位 12 と、界面活性処理部 8、特異的タンパク固定化部 13 と、反応層 14 と、吸水部 15 とを備える。

- 25      試料添加部 11 は、吸収性の大きい不織布などからなり、液体試料が添加あるいは塗布される。標識物保持部位 12 は、不織布などに溶解可能なように標識試薬を保持するものである。反応層 14 は、ニトロセルロースなどからなるものであり、その領域上に界面活性処理部 8 と、標識物保持部位 13 とを持つものである。上記界面活性処理部 8 は、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を溶解した界面活性剤溶解液を、上記反応層 14 上にコーティング処理した後、乾燥処理されたものである。ここで示す界面活性剤、及び上記乾燥した際に固体と

なり得る性状の界面活性剤については、実施の形態 1 において上述したものがある。特異的タンパク固定化部 1 3 は、上記反応層 1 4 の界面活性処理部 8 の領域上に、反応形式にあわせて抗体あるいは抗原のような分析対象物に対して特異的に結合反応する特異的タンパク質を固定化したものである。吸水部 1 5 は、上記反応層 1 4 上の反応結果を見るための結果確認窓 1 6 を有しており、液体試料を最終的に吸収するものである。そして、上記試料添加部 1 1、標識物保持部位 1 2、特異的タンパク固定化部 1 3 と界面活性処理部 8 とを含む反応層 1 4、及び吸水部 1 5 を積層させて、縦型クロマトグラフィー試験片 2 0 を形成する。

上記縦型クロマトグラフィー試験片 2 0 上の標識物保持部位 1 2 に保持する標識試薬、及び上記特異的タンパク固定化部 1 3 に固定化する特異的タンパク質は、分析する試料、及び分析対象物に合わせて適切なものを選択する必要がある。

また、上記反応層 1 4 に対する界面活性剤処理は、反応層 1 4 に界面活性剤溶解液をコーティングするコーティング処理により行うとしたが、実施の形態 1 のように反応層 1 4 に界面活性剤溶解液を含浸する含浸処理により行ってもよい。そして、上記反応層 1 4 に対する界面活性剤処理は、本実施の形態 2 のように反応層 1 4 の一部に対してなされても、実施の形態 1 のように反応層全体に対してなされてもよい。

なお、上記反応層 1 4 に対してコーティングする界面活性剤溶解液に含まれる界面活性剤、上記界面活性剤溶解液を反応層 1 4 にコーティングした後の乾燥処理、及び上記縦型クロマトグラフィー試験片 2 0 の材料については、実施の形態 1 と同様であるため、ここでは説明を省略する。

次に、本実施の形態 2 による縦型クロマトグラフィー試験片 2 0 を用いたクロマトグラフ分析方法について説明する。

第 2 図、第 3 図、及び第 4 図に示された縦型クロマトグラフィー試験片 2 0 上において、液体試料が試料添加部 1 1 に添加されると、該液体試料が試料添加部 1 1 に浸透し、標識物保持部位 1 2 に達する。次に、標識物保持部位 1 2 の領域に保持された標識試薬が、液体試料の浸透により溶解され、液体試料と共に反応層 1 4 に浸透する。そして、液体試料の浸透と共に界面活性処理部 8 に含まれた界面活性剤が溶解する。溶解した界面活性剤の作用により、反応層 1 4 の浸潤が

速やかに行われ、液体試料の浸透は、浸透する液体の先端が比較的均一な状態で、且つ滞ること無く進行する。反応層 1 4 の領域上には、特異的タンパク質が固定化された特異的タンパク固定化部 1 3 が有り、液体試料が分析対象物を含む場合は、特異的タンパク質が分析対象物と標識試薬との複合体に対して抗原抗体反応を起し、特異的タンパク固定化部 1 3 の領域に何らかの呈色反応が見られる。この呈色反応は、吸水部 1 5 に設けられた結果確認窓 1 6 を通して見ることができる。液体試料が分析対象物を含まない場合は、抗原抗体反応は起こらず、呈色反応も見られない。そして最終的に、液体試料は吸水部 1 5 に吸収され、反応は終了する。

- 10 以上のように、本実施の形態 2 による縦型クロマトグラフィー試験片 2 0 によれば、縦型クロマトグラフィー試験片 2 0 上の界面活性剤溶解液の含浸処理と乾燥処理により、反応層 1 4 における浸透性を向上させ、より均一な浸透が可能となる。この浸透性の向上と、均一な浸透とは、クロマトグラフィー試験片 2 0 の反応性を向上させ、より高感度で、且つより高性能なクロマトグラフィー測定を実現するという効果が得られる。

- また、反応層 1 4 上にコーティングする界面活性剤溶解液に使用する界面活性剤として、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を含むものを用いることにより、液体試料が添加され反応層 1 4 に浸透するまで、反応層 1 4 は完全な乾燥状態にあるため、固定化された特異的タンパク質の失活を最低限に抑えることができ、クロマトグラフィー試験片 2 0 の保存安定性の向上と、品質保持期間の長期化と、保管条件の緩和とを実現することができる。

- また、上記界面活性剤として、HLB 値が 2 0 以下の界面活性剤を含むものを用いることで、反応層 1 4 における液体試料の浸透速度が速すぎることで反応が不十分となることを回避することができる。さらに、上記 HLB 値を選択してその反応速度を適度なものに調節するようにすれば、より高感度で、且つ高性能なクロマトグラフィー測定を実現できる。

-----また、上記界面活性剤として、非イオン性の界面活性剤を含むものを用いることにより、上記反応層 1 4 上への標識試薬の非特異吸着を回避でき、標識試薬が反応層 1 4 上にバックグラウンドとして残留し、特異的タンパク固定化部 1 3 に



における呈色反応の測定誤差を防止することができる。そしてその結果、クロマトグラフィー試験片 20 による、より高感度で、且つより高性能な測定が可能となる。

5 また、上記界面活性剤として、コール酸系の界面活性剤を含むものを用いることにより、タンパク質に対しての影響を低減でき、上記特異的タンパク固定化部 13 に固定化された特異的タンパク質の変性あるいは失活を最低限に抑えることが可能となり、上記界面活性処理部 8 の長期間の性能保持を実現できる。

10 また、上記界面活性剤として、親水部に糖を持つ界面活性剤を含むものを用いることにより、糖の作用により溶解性が高くなり浸透性が増す一方で、タンパク質に対しての影響が低いため、固定化された特異的タンパク質の変性あるいは失活を最低限に抑えることが可能となり、上記界面活性処理部 8 の長期間の性能保持を実現できる。

15 また、上記反応層 14 の乾燥を自然乾燥により行うことで、その反応層 14 に固定化された特異的タンパク質に対する負荷を低く抑えることが可能となり、試験片 20 の長期間の性能保持を実現できる。

また、上記反応層 14 の乾燥を風乾燥により行うことで、乾燥時間を短時間化することができ、乾燥中における特異的タンパク質の失活あるいは変性を最低限に抑えることが可能となり、試験片 20 の長期間の性能保持を実現できる。

20 また、上記反応層 14 の乾燥を凍結乾燥により行うことで、特異的タンパク質の性質をほぼ保持することが可能となり、試験片 20 の長期間の性能保持を実現できる。

25 また、実施の形態 2 においては、クロマトグラフ分析で用いられる反応成分として特異的タンパク質を例に挙げて説明したが、実施の形態 1 と同様、上記反応成分として例えば酵素のように反応の前後において何らかの変化を生じるものを用いてもよい。

ここで、第 5 図、第 6 図を用いて、酵素を反応成分としたクロマトグラフ分析について説明する。

第 5 図、及び第 6 図は、酵素を用いた縦型クロマトグラフィー試験片の構成を示す図である。

クロマトグラフィー試験片 30 は、試料添加部 11 と、反応試薬含浸部位 17 と、反応層 14 と、界面活性処理部 8 と、酵素固定化部 7 と、吸水部 15 とを備える。上記反応試薬含浸部位 17 は、試料添加部 11 に添加される液体試薬により溶解可能なように、不織布などに反応試薬を保持するものであり、上記酵素固定化部 7 は、反応層 14 の領域上に、反応形式に合わせて、分析対象物に対して結合反応を示す酵素を固定化して保持するものである。なお、上記クロマトグラフィー試験片 30 における、上記酵素固定化部 7、及び反応試薬含浸部位 17 以外を構成する上記試料添加部 11、反応層 14、界面活性処理部 8、吸水部 15 は、上述した縦型クロマトグラフィー試験片 20 と同様であるため、説明を省略する。

上記酵素を用いた縦型クロマトグラフィー試験片 30 によるクロマトグラフ分析方法については、上述した縦型クロマトグラフィー試験片 20 と同様であるが、液体試料が分析対象物を含む場合には、反応試薬含浸部位 17 に含浸された反応試薬と、酵素固定化部 7 に固定化された酵素の作用により、酵素固定化部 7 の領域に何らかの呈色が見られることとなる。

また、この酵素を用いたクロマトグラフィー試験片 30 にも、縦型クロマトグラフィー試験片 20 と同様、反応層 14 に乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を溶解した界面活性剤溶解液によるコーティング処理を施した後に乾燥処理を行うことによって、上記縦型クロマトグラフィー試験片 20 において得られた効果と同様の効果が得られるものである。

#### (実施例)

以下の実施例により、本発明を実施する方法をさらに詳細に説明する。

#### (血漿中 hCG の定量)

ニトロセルロース膜中に抗 hCG- $\beta$  抗体固定化ライン、及び抗 hCG- $\alpha$  抗体と金コロイドとの複合体の広いバンドを含む、横型免疫クロマトグラフィー試験片を製造した。この試験片を第 1 図に示す。図中、試験片 10 は、ニトロセルロース膜である反応層 4 上に、抗 hCG- $\beta$  抗体固定化ラインである特異的タンパク固定化部 5 と、それよりも前にある抗 hCG- $\alpha$  抗体と金コロイドとの複合体が含有された領域である標識物保持部位 3 とを保持し、その前後に不織布から

なる試料添加部 2 と、ガラス繊維ろ紙からなる吸水部 6 とを含む。この試験片 10 は、次のようにして製造した。

#### 実施例 1.

##### 横型免疫クロマトグラフィー試験片の調製

- 5      リン酸緩衝溶液にて希釈して濃度調整をした抗 h C G -  $\beta$  抗体溶液を準備した。この抗体溶液を溶液吐出装置を用いて、ニトロセルロース膜上に塗布した。これにより、ニトロセルロース膜上に検出用の抗体固定化ラインが得られた。このニトロセルロース膜を乾燥後、1 % スキムミルクを含有する T r i s - H C l 緩衝溶液中に浸漬して 30 分間緩やかに振った。30 分後、T r i s - H C l 緩衝溶
- 10    液槽に上記ニトロセルロース膜を移動させ、10 分間緩やかに振った後に、別の T r i s - H C l 緩衝溶液槽にて更に 10 分間緩やかに振り、ニトロセルロース膜の洗浄を行なった。2 度洗浄を行った後に、0.05 % S u c r o s e M o n o l a u r a t e (同仁化学製) を含有する T r i s - H C l 緩衝溶液中に浸漬して 10 分間緩やかに振った上記ニトロセルロース膜を液槽から取り出して、
- 15    室温で乾燥させた。これによって、反応層 4 であるニトロセルロース膜上に特異的タンパク固定化部 5 が得られた。

- 金コロイドは、0.01 % 塩化金酸の還流中の 100 °C 溶液に 1 % クエン酸溶液を加えることによって調製した。還流を 30 分間続けた後に、冷却した。0.2 M の炭酸カリウム溶液によって、p H 9 に調製した前記金コロイド溶液に、抗
- 20    h C G -  $\alpha$  抗体を加えて数分間攪拌した後に、10 % B S A (牛血清アルブミン) 溶液 p H 9 を最終 1 % になる量だけ加えて攪拌することで、抗体金コロイド複合体 (標識抗体) を調製した。上記標識抗体溶液を 4 °C、20000 G で 50 分間遠心分離することによって、標識抗体を単離して、それを洗浄緩衝液 (1 % B S A ・リン酸緩衝液) 中に懸濁した後に、上記遠心分離を行って、標識抗体を洗浄
- 25    単離した。この標識抗体を洗浄緩衝液で懸濁して、0.8  $\mu$  m のフィルタにて濾過した後に、当初の金コロイド溶液量の 10 分の 1 に調製して、4 °C で貯蔵した。

上記標識抗体溶液を溶液吐出装置にセットして、抗 h C G -  $\beta$  抗体固定化乾燥膜上の抗体固定化位置から離れた位置に塗布した後に、膜を乾燥させた。これによって、固定化膜上に標識抗体保持部位 3 が得られた。

こうして調製された標識抗体保持部位3を含む抗体固定化膜を、反応層担体支持体1上に貼付け、不織布を試料添加部2として、またガラス繊維ろ紙を吸水部6として付け加えてから、0.5cm幅の細片に切断して、試験片10を作製した。

## 5 実施例2.

### 試料の調製

抗凝固剤としてヘパリンを加えた人の血液を4000rpmにて、5分間遠心分離を行って血球を分離した血漿を調製した。この血漿に既知濃度のhCG溶液を加えることにより、さまざまな既知濃度のhCG溶液を調製した。

## 10 実施例3.

### 免疫クロマトグラフィー試験片上の呈色度合の測定

試験片10上の試料添加部1に、hCGを含む血漿を200 $\mu$ l以上添加して吸水部6方向へと展開処理し、抗原抗体反応をさせ、抗hCG- $\beta$ 抗体が固定化された特異的タンパク固定化部5における呈色反応を行った。そして、上記試験片10への試料添加から5分後の呈色状況を反射型分光光度計(CS9300; 島津製作所製)を用いて計測し、呈色度を演算処理した。

本実施例においては、0, 100, 1000, 10000U/lのhCGを含有する血漿を、試験片10に添加して展開処理させ、各hCG濃度の血漿に対する試験片10上の抗体固定化部5の呈色状況を反射型分光光度計で測定した。反射型分光光度計により520nmの波長における吸光度を計測して、予め作成しておいたhCG濃度と吸光度との関係を示す検量線に代入した。その結果を第7図に示す。本来、例えば各試験片10上に1000U/lのhCGを含有する血液を添加して、その各試験片10の呈色領域の吸光度を計測し、その各試験片10において計測した吸光度を検量線に代入してhCG濃度を求めると、その値は  
25 全て1000U/lとなるはずであるが、実際その検量線に代入して得られる値は、各試験片10での反応状態によって、1000U/lより少しずれる。つまり、そのずれの大きさにより、各試験片10での測定の正確さを知らることができ  
る。

第7図は、上述したようにして作成した免疫クロマトグラフィー試験片におい

て、反応層を界面活性剤で処理していない場合（a）と、界面活性剤で処理した場合（b）との定量性能を示す図である。横軸は、試験片10に添加した試料のhCG濃度を表す。縦軸は、試験片10上の呈色領域における標識物からの吸光度を検量線に代入して求めた抗原濃度の換算値を表す。

- 5      以下、上記免疫クロマトグラフィー試験片10において、反応層4を界面活性剤で処理していない場合と、界面活性剤で処理した場合について、その効果を説明する。ここで示す界面活性剤で処理した反応層とは、実施例1において、T r i s - H C l 緩衝液にて2度洗浄を行った後に、0.05% S u c r o s e M o n o l a u r a t e を含有するT r i s - H C l 緩衝液中に浸漬して10分間
- 10   穏やかに振った後に室温放置で乾燥させたものであり、処理していない反応層とは、T r i s - H C l 緩衝液にて2度洗浄を行った後に室温放置で乾燥させたものを示す。

- 第7図において、免疫クロマトグラフィー試験片10に液体試料を添加し、5分後の呈色度合の測定値をもとに、分析対象物の濃度を換算した結果を表している。
- 15   この際に使用した標識試薬は、第7（a），（b）図共に、同じ抗体-金コロイド複合体を使用している。まず、界面活性剤で反応層4を処理した場合（第7（b）図）は、C V 値（変動係数）が0～7%であるのに対して、界面活性剤で処理していない場合（第7（a）図）は、C V 値が15～35%と、大きなばらつきを示し、定量性能が悪いことがわかる。以上の結果から、上記免疫クロマト
- 20   グラフィー試験片10において、界面活性剤を含浸処理した反応層を用いることは、定量性能の向上に大きく関与していることが理解できる。本実施例においては定量性能について比較説明を行ったが、定性試験においても界面活性剤を含浸処理した反応層を有したクロマトグラフィー試験片を用いた方が、より正確な測定結果が得られている。

- 25      なお、本実施例においては、金コロイドを標識物として用いているため、520nmの波長における呈色度合を測定したが、標識物が持つ吸収波長であれば、どの波長における吸光度を測定しても良い。

本発明に係るクロマトグラフィー試験片、及びその製造方法は、クロマトグラフィー試験片の反応層における浸透速度と浸透性の向上、浸透性の均一化、及びクロマトグラフィー試験片での測定性能の向上を実現するものとして極めて有用である。

## 請 求 の 範 囲

1. 湿潤可能な複数の多孔質性材料を積層してなる、あるいは単層の多孔質性材料よりなるクロマトグラフィー試験片において、
- 5      クロマトグラフ分析で用いられる反応成分の少なくとも一つが固定化された反応層が、乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を含む、  
        ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片。
2.      請求の範囲第1項に記載のクロマトグラフィー試験片において、  
        上記界面活性剤が、20以下のHLB値の界面活性剤を含む、
- 10      ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片。
3.      請求の範囲第1項または請求の範囲第2項に記載のクロマトグラフィー試験片において、  
        上記界面活性剤が、非イオン性の界面活性剤を含む、  
        ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片。
- 15      4.      請求の範囲第1項ないし請求の範囲第3項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片において、  
        上記界面活性剤が、コール酸系の界面活性剤を含む、  
        ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片。
- 20      5.      請求の範囲第1項ないし請求の範囲第4項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片において、  
        上記界面活性剤が、親水部に糖を持つ界面活性剤を含む、  
        ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片。
6.      請求の範囲第1項ないし請求の範囲第5項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片において、
- 25      上記反応層は、上記界面活性剤を上記反応層の全体に含む、  
        ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片。
7.      請求の範囲第1項ないし請求の範囲第5項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片において、  
        上記反応層は、上記界面活性剤を上記反応層の一部に含む、

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片。

8. クロマトグラフ分析で用いられる反応成分の少なくとも一つが固定化された反応層を有するクロマトグラフィー試験片の製造方法において、

乾燥した際に固体となり得る性状の界面活性剤を溶解した界面活性剤溶解液を、

5 上記クロマトグラフィー試験片の反応層に含浸、あるいはコーティングするステップと、

上記反応層に含浸、あるいはコーティングした界面活性剤溶解液を乾燥させるステップと、を備えた、

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

10 9. 請求の範囲第8項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、  
上記界面活性剤が、20以下のHLB値の界面活性剤を含む、

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

10. 請求の範囲第8項または請求の範囲第9項に記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、

15 上記界面活性剤が、非イオン性の界面活性剤を含む、

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

11. 請求の範囲第8項ないし請求の範囲第10項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、

上記界面活性剤が、コール酸系の界面活性剤を含む、

20 ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

12. 請求の範囲第8項ないし請求の範囲第11項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、

上記界面活性剤が、親水部に糖を持つ界面活性剤を含む、

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

25 13. 請求の範囲第8項ないし請求の範囲第12項のいずれかに記載のクロマトグラフィー試験片の製造方法において、

----- 上記反応層の乾燥が自然乾燥により行われる、-----

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

14. 請求の範囲第8項ないし請求の範囲第12項のいずれかに記載のクロマ



トグラフィー試験片の製造方法において、

上記反応層の乾燥が風乾燥により行われる、

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

15. 請求の範囲第8項ないし請求の範囲第12項のいずれかに記載のクロマ

5 トグラフィー試験片の製造方法において、

上記反応層の乾燥が凍結乾燥により行われる、

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

16. 請求の範囲第8項ないし請求の範囲第15項のいずれかに記載のクロマ  
トグラフィー試験片の製造方法において、

10 上記界面活性剤溶解液が、上記反応層の全体に含浸、あるいはコーティングさ  
れる、

ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

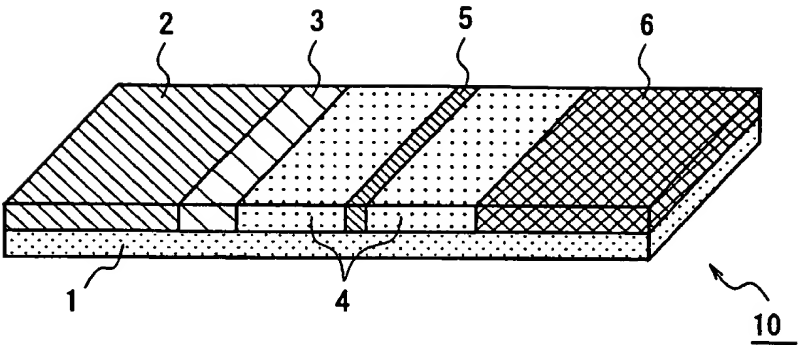
17. 請求の範囲第8項ないし請求の範囲第15項のいずれかに記載のクロマ  
トグラフィー試験片の製造方法において、

15 上記界面活性剤溶解液が、上記反応層の一部に含浸、あるいはコーティングさ  
れる、

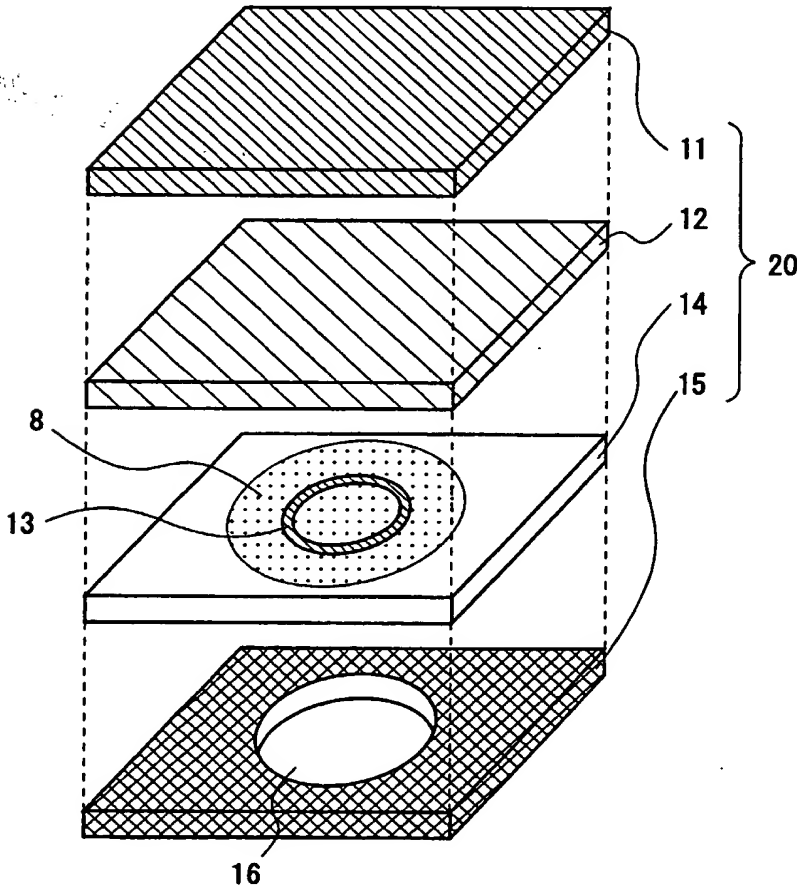
ことを特徴とするクロマトグラフィー試験片の製造方法。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

第1図



第2図

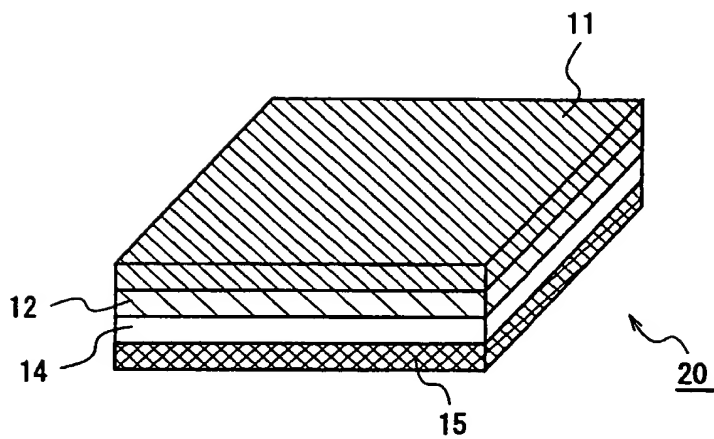


**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

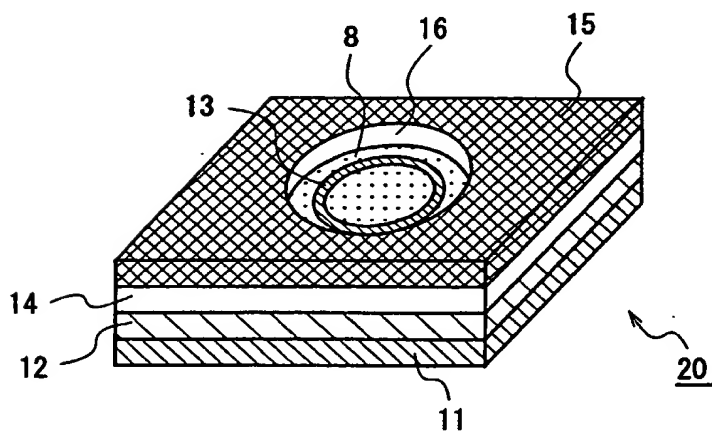
---

2/5

第3図



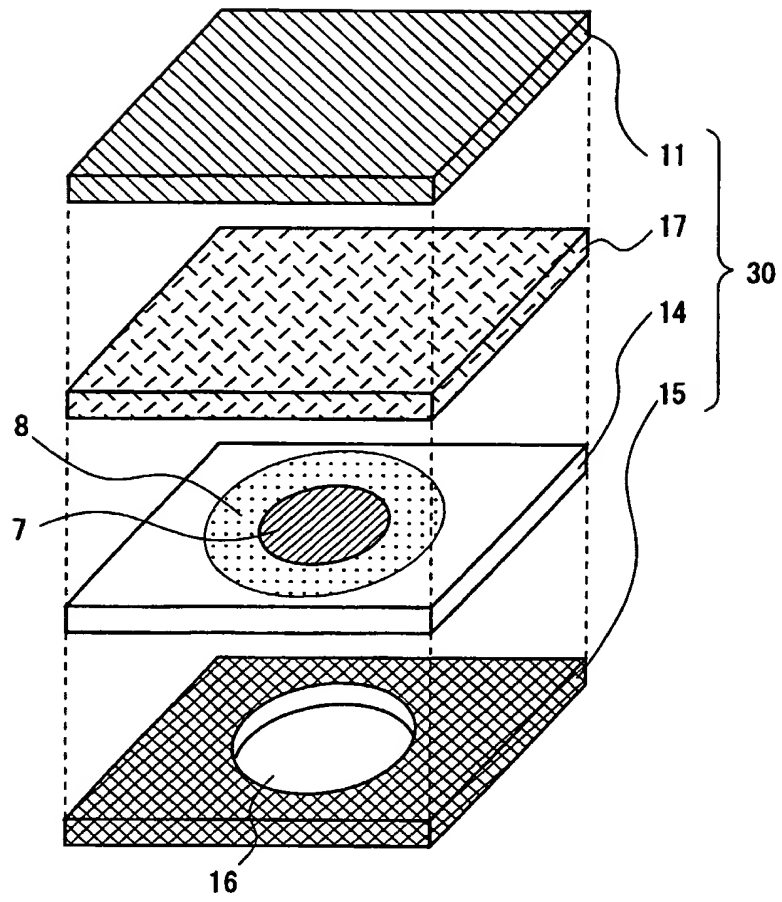
第4図



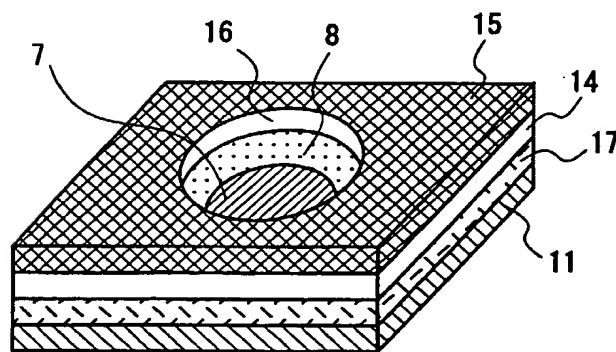
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

3/5

第5図



第6図



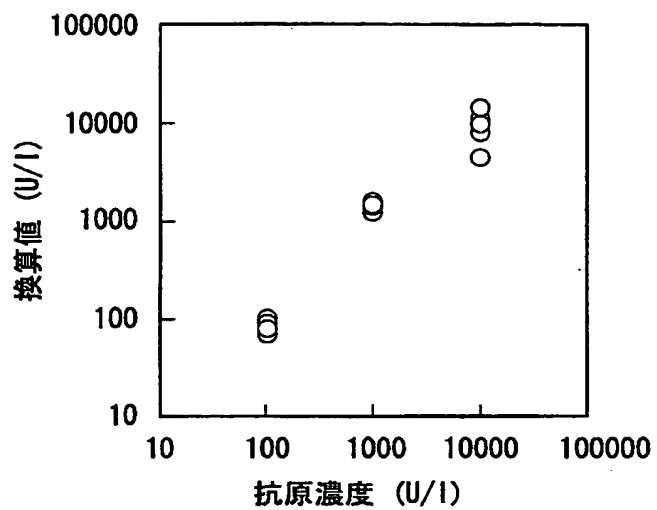
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---



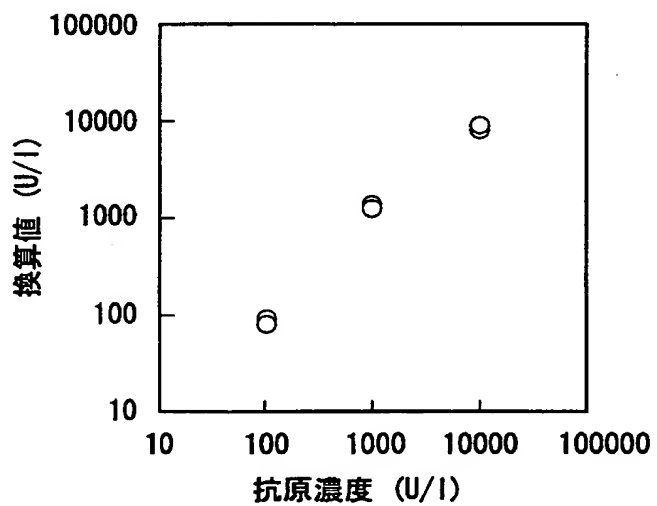
第7(a) 図

界面活性剤なし



第7(b) 図

界面活性剤あり

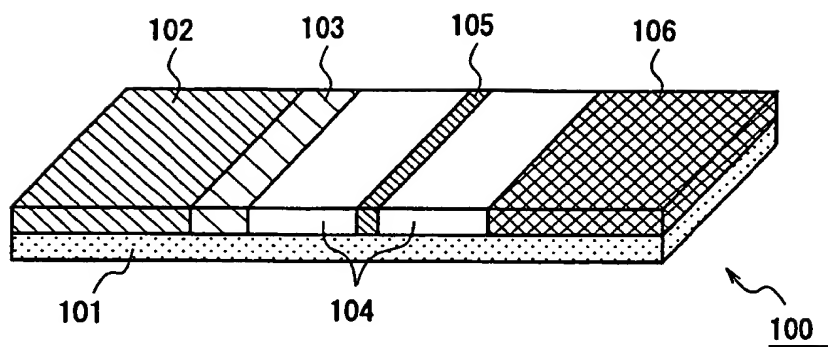


**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

5/5

第8図



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/00784

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/543

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
 Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2001  
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2001 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 3-120468, A (Abbott Laboratories), 22 May, 1991 (22.05.91), & EP, 420021, A	1-17
Y	JP, 3-120469, A (Abbott Laboratories), 22 May, 1991 (22.05.91), & EP, 421234, A	1-17
Y	JP, 3-120470, A (Abbott Laboratories), 22 May, 1991 (22.05.91), & EP, 421235, A	1-17
Y	JP, 11-64336, A (Bayer Corporation), 05 March, 1999 (05.03.99), & EP, 889327, A	1-17
Y	JP, 11-153601, A (Matsushita Electric Ind. Co., Ltd.), 08 June, 1999 (08.06.99), & EP, 903584, A	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
 26 April, 2001 (26.04.01)

Date of mailing of the international search report  
 15 May, 2001 (15.05.01)

Name and mailing address of the ISA/  
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> G01N33/543

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> G01N33/543

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2001年
日本国登録実用新案公報	1994-2001年
日本国実用新案登録公報	1996-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 3-120468, A (アボット・ラボラトリーズ) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) &EP, 420021, A	1~17
Y	JP, 3-120469, A (アボット・ラボラトリーズ) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) &EP, 421234, A	1~17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 04. 01

国際調査報告の発送日

15.05.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

亀田 宏之

2J

9015

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

様式PCT/ISA/210 (第2ページの続き) (1998年7月)



E P • U S P C T

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 P 2 4 7 0 1 - P O	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 0 1 / 0 0 7 8 4	国際出願日 (日.月.年) 0 5 . 0 2 . 0 1	優先日 (日.月.年) 0 4 . 0 2 . 0 0
出願人(氏名又は名称) 松下電器産業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 1 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>1</sup> G01N33/543

B. 調査を行った分野  
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>1</sup> G01N33/543

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの  
 日本国実用新案公報 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2001年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2001年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 3-120468, A (アボット・ラボラトリーズ) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) & EP, 420021, A	1~17
Y	JP, 3-120469, A (アボット・ラボラトリーズ) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) & EP, 421234, A	1~17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日  
26. 04. 01

国際調査報告の発送日  
15.05.01

国際調査機関の名称及びあて先  
 日本国特許庁 (ISA/JP)  
 郵便番号 100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
 亀田 宏之 印  
 電話番号 03-3581-1101 内線 3252

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 3-120470, A (アボット・ラボラトリーズ) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) &EP, 421235, A	1~17
Y	J P, 11-64336, A (バイエルコーポレーション) 5. 3月. 1999 (05. 03. 99) &EP, 889327, A	1~17
Y	J P, 11-153601, A (松下電器産業株式会社) 8. 6月. 1999 (08. 06. 99) &EP, 903584, A	1~17

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

National application No.

PCT/JP01/00784

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/543

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2001	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 3-120468, A (Abbott Laboratories), 22 May, 1991 (22.05.91), & EP, 420021, A	1-17
Y	JP, 3-120469, A (Abbott Laboratories), 22 May, 1991 (22.05.91), & EP, 421234, A	1-17
Y	JP, 3-120470, A (Abbott Laboratories), 22 May, 1991 (22.05.91), & EP, 421235, A	1-17
Y	JP, 11-64336, A (Bayer Corporation), 05 March, 1999 (05.03.99), & EP, 889327, A	1-17
Y	JP, 11-153601, A (Matsushita Electric Ind. Co., Ltd.), 08 June, 1999 (08.06.99), & EP, 903584, A	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
26 April, 2001 (26.04.01)Date of mailing of the international search report  
15 May, 2001 (15.05.01)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> G01N33/543

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> G01N33/543

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2001年
日本国登録実用新案公報	1994-2001年
日本国実用新案登録公報	1996-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 3-120468, A (アボット・ラボラトリーズ) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) & EP, 420021, A	1~17
Y	JP, 3-120469, A (アボット・ラボラトリーズ) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) & EP, 421234, A	1~17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 04. 01

国際調査報告の発送日

15.05.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
郵便番号100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

亀田 宏之



2 J 9015

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

---

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 3-120470, A (アボット・ラボラトリーズ) 22. 5月. 1991 (22. 05. 91) &EP, 421235, A	1~17
Y	J P, 11-64336, A (バイエルコーポレーション) 5. 3月. 1999 (05. 03. 99) &EP, 889327, A	1~17
Y	J P, 11-153601, A (松下電器産業株式会社) 8. 6月. 1999 (08. 06. 99) &EP, 903584, A	1~17

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**